Aus dem Physiologisch-Chemischen Institut der Universität Freiburg im Breisgau

Direktor: Professor Dr. Helmut Holzer

# Untersuchungen zum Kohlenhydratstoffwechsel bei Escherichia coli.

I

Versuche über die Bedeutung des Orthophosphats bei der Regulation des Kohlenhydratstoffwechsels

II

Zur Biosynthese der Colitose

Kurzfassung der

**Inaugural-Dissertation**

zur Erlangung der Medizinischen Doktorwürde einer

**Hohen Medizinischen Fakultät**

der Albert-Ludwigs-Universität zu Freiburg im Breisgau

vorgelegt von

Hans Grunicke

aus Meinerzhagen

1962

UNIVERSITEITSBIBLIOTHEEK - LEIDEN -

---

Dekan: Professor Dr. Hermann Krauss

Referent: Professor Dr. Helmut Holzer

Die vorliegende Arbeit ist erschienen in:
Biochemica et Biophysica Acta, 53 (1961) S. 591—592

# Zum Mechanismus des Pasteur-Effektes: Abhängigkeit des Glucoseumsatzes in Escherichia coli von der Orthophosphatkonzentration

Nach LYNEN[1] UND JOHNSON[2] reguliert die Orthophosphat- und die ADP-Konzentration den Glucoseabbau auf der Stufe der Dehydrierung von Phosphoglycerinaldehyd zu Phosphoglycerinsäure. LYNEN[1,3] sowie WU UND RACKER[4,5] stellen hierbei die Bedeutung der Orthophosphatkonzentration in den Vordergrund, während CHANCE[6] die ADP-Konzentration als entscheidend bezeichnet. Wir zeigen in der vorliegenden Arbeit, dass bei *E. coli* Zusatz von Orthophosphat zum Suspensionsmedium den aeroben Glucoseumsatz auf den anaeroben Wert steigert. Dieser Befund stützt die Ansicht von LYNEN[1,3] und WU UND RACKER[4,5], wonach die intrazelluläre Orthophosphatkonzentration entscheidend die Grösse des Glucoseabbaues bestimmt.

Aus der Tabelle sieht man, dass die von uns studierten *E. coli* Zellen einen kräftigen Pasteur-Effekt aufweisen: $O_2$ verringert den anaeroben Glucoseumsatz auf etwa die Hälfte (Anaerobiose wurde hierbei durch Zusatz von 1 m*M* $CN^-$ bewirkt). Um zu kontrollieren, ob *E. coli* unter den von uns verwendeten Bedingungen die seit langem bekannte Aufhebung des Pasteur-Effektes durch Zusatz von 2,4-Dinitrophenol oder Ammoniumsalzen zeigt, wurden Versuche mit diesen Substanzen durchgeführt.

TABELLE I

ABNAHME DER GLUCOSEKONZENTRATION IN EINER *E. coli*-SUSPENSION UNTER VERSCHIEDENEN BEDINGUNGEN

Eine Kultur von *E. coli* $O_{111}$:$B_4$ wurde in Merck Standard II-Bouillon bis zum Ende der logarithmischen Phase bei 37° unter Belüftung vermehrt. Die Zellen wurden 20 min bei 35000 × *g* abzentrifugiert, zwei mal in dem von ROBERTS *et al.*[9] angegebenen Medium N gewaschen und anschliessend in wenigen ml $H_2O$ suspendiert. Jeweils $7 \cdot 10^{10}$ Zellen pro Ansatz; Gesamtvolumen 30 ml; Gasraum Luft; Temperatur 37°; Anfangskonzentration an Glucose 1 mg/ml; Endkonzentration an KCN 1 m*M*; an 2,4-Dinitrophenol 2.5 m*M*; an $NH_4Cl$ 0.05 *M*; an Tris–HCl Puffer (pH 7.2) 0.09–0.1 *M*. Beim Versuch mit Orthophosphat wurde 0.06 *M* Phosphat Puffer nach SÖRENSEN (pH 7.2) verwendet. Ein Kontrollversuch[8] zeigte, dass Zusatz von 0.1 *M* Tris–HCl Puffer keine Hemmung der Glucoseabnahme bewirkte. Zur Glucosebestimmung wurden 0.5 ml entnommen, mit demselben Volumen 35 % $HClO_4$ versetzt und 15 min bei 2000 × *g* zentrifugiert. Im überstand wurden die Glucosekonzentrationen enzymatisch mit Glucoseoxydase bestimmt[10].

| *Bedingungen* | *Glucoseabnahme in mg/ml in 60 min* | *Glucoseabnahme in % des anaeroben Wertes* |
|---|---|---|
| Anaerob (aerob + 1 m*M* KCN) | 0.63 | 100 |
| Aerob (Gasraum Luft) | 0.37 | 59 |
| Aerob + 2,4-Dinitrophenol | 0.60 | 95 |
| Aerob + 0.05 *M* $NH_4^+$ | 0.66 | 105 |
| Aerob + 0.06 *M* Orthophosphat | 0.63 | 100 |

Man sieht aus der Tabelle, dass wie zu erwarten Dinitrophenol und Ammoniumsalze den aeroben Glucoseumsatz auf den anaeroben Wert steigern. Die Ammoniumwirkung auf den Pasteur-Effekt deuten wir, wie früher mit Hefezellen gezeigt[7], als eine Folge der Induktion $NH_4^+$-abhängiger Synthesen, die einen gesteigerten Verbrauch von ATP und damit eine vermehrte Freisetzung von Orthophosphat und ADP bewirken.

Wie die Tabelle weiter zeigt, erhält man mit 0.06 *M* Orthophosphat im Medium eine Erhöhung des aeroben Glucoseumsatzes auf den anaeroben Wert. Ein Kontroll-

versuch mit einer KCl und NaCl enthaltenden Lösung, die denselben $K^+$- und $Na^+$-Gehalt aufwies wie die von uns verwendete 0.06 *M* Phosphatlösung, ergab keinen Einfluss auf den Glucoseumsatz[8]. Dies zeigt einfach und übersichtlich, dass es bei *E. coli* die Konzentration an Orthophosphationen ist, die den aeroben Glucoseumsatz limitiert. Bei Hefezellen beobachtet man einen derartigen Effekt nur in sehr geringem Umfange, da Orthophosphat nur sehr langsam in Hefezellen eindringt. Bei Ascites-Tumorzellen konnten Wu und Racker[4,5] eine deutliche Erhöhung des aeroben Glucoseumsatzes durch Zugabe von Orthophosphat erzielen. Allerdings wird der anaerobe Wert nicht erreicht. Vermutlich deshalb, weil dafür die Penetrationsgeschwindigkeit von Orthophosphat nicht ausreicht.

Der Deutschen Forschungsgemeinschaft und dem Bundesministerium für Atomkernenergie und Wasserwirtschaft danken wir für Beihilfen, die die vorliegende Arbeit ermöglicht haben.

Die vorliegenden Versuche sind einer Arbeit entnommen, die von H. Grunicke der Medizinischen Fakultät der Universität Freiburg im Breisgau als Dissertation vorgelegt wird.

*Physiologisch-Chemisches Institut der Universität, Freiburg im Breisgau (Deutschland)*

Helmut Holzer
Hans Grunicke

1 F. Lynen, *Ann. Chem., Liebigs*, 546 (1941) 120.
2 J. M. Johnson, *Science*, 94 (1941) 200.
3 F. Lynen, G. Hartmann, K. F. Netter und A. Schuegraf, *Ciba Foundation Symposium on Regulation of Cell Metabolism*, J. und A. Churchill, Ltd., London, England, 1959, S. 256.
4 R. Wu und E. Racker, *J. Biol. Chem.*, 234 (1959) 1036.
5 E. Racker und R. Wu, *Ciba Foundation Symposium on Regulation of Cell Metabolism*, J. und A. Churchill, Ltd., London, England, 1959, S. 205.
6 B. Chance, *Ciba Foundation Symposium on Regulation of Cell Metabolism*, J. und A. Churchill, Ltd., London, England, 1959, S. 91.
7 H. Holzer und I. Witt, *Biochem. Z.*, 330 (1958) 545.
8 H. Grunicke, Dissertation, Universität Freiburg im Breisgau, 1961.
9 B. R. Roberts, P. H. Abelson, D. B. Cowie, E. T. Bolton und R. J. Britten, *Studies of Biosynthesis in Escherichia coli*, Carnegie Institute of Washington, Washington, 1955.
10 *Biochemica Boehringer*, Information der Fa. C. F. Boehringer und Söhne, Mannheim.

Eingegangen den 13. Mai 1961



Printed in The Netherlands

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545301_0031

# Lebenslauf

Ich wurde am 7. 10. 1935 als Sohn des Zahnarztes Dr. Hanns Grunicke und seiner Ehefrau Margarete geb. Hieby in Meinerzhagen in Westfalen geboren. Am Geburtsort besuchte ich vom Herbst 1942 bis Ostern 1947 die Volksschule und anschließend bis Ostern 1951 die Mittelschule. Ich wechselte dann über zum Zeppelin-Gymnasium in Lüdenscheid, wo ich im Frühjahr 1956 mein Abitur ablegte. Zum Sommersemester 1956 wurde ich an der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg immatrikuliert. Im Sommersemester 1957 wechselte ich zur Universität Freiburg, wo ich im Sommersemester 1958 die ärztliche Vorprüfung bestand. Nach der ärztlichen Vorprüfung setzte ich mein Studium an der Universität Freiburg fort. Am Ende des Wintersemester 1961/62 bin ich in die medizinische Staatsprüfung eingetreten.